

# エンドウ幼茎の不定根発生におよぼす オーキシン類の影響について

研修員 吉 井 信 三\*

## 1 はじめに

植物の不定根発生については、Went, Thiman らによって、これに関与する重要な物質の一つがオーキシンであることが明らかにされ<sup>1)</sup>、その後、合成ホルモンも天然ホルモンと同様に影響するということが報告<sup>2)</sup>されている。<sup>3)</sup>

滝島は、植物生長ホルモンがエンドウ幼茎に対してどのように作用するかを調べるための簡易試験法（不定根の発根数で植物生長ホルモンの効果を検定する）を発表し、合成ホルモンのうち、 $\alpha$ ナフタリン酢酸カリ塩の効果を報告した。この方法は、それまで植物生長ホルモンの作用の検定にもちいられていた Avena test などよりも、試料の育成、予備試験や操作方法に手数がかからないという点で、すぐれていた。

そこで、筆者は、この方法を用い、植物ホルモン（オーキシン類）のうち、とくにインドール酢酸、 $\alpha$ ナフタリン酢酸と 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸を使用し、エンドウ幼茎に対しての作用のちがいがどのようにあらわれてくるか調べながら、中学校や高等学校での教材化についての資料を得ようとした。

その結果は、中学校、高等学校での教材の基礎的な資料として活用できると思われるので報告する。

## 2 材料と方法

### (1) 材料

大きさのそろったエンドウ種子（白花絹莢三十日）を水洗いし、6時間水道水に浸し、これを花王ブリーチ（漂白剤）の3倍希釈液に2分間浸して殺菌する。その後、水道水、蒸留水で水洗いして煮沸消毒し、水で湿らせた木屑中に播き、暗中で生育させる。10日ほどして10cm～15cmにのび、黄化した幼茎をとり出し、よく水洗いし、消毒したカミソリの刃で子葉のみを残し根部を除去する。その後それをさらに蒸留水でよく洗って、以下の実験に使用した。

使用したオーキシン類は、つぎの3種類である。

○  $\beta$ インドール酢酸 (IAA) ○  $\alpha$ ナフタリン酢酸 (NAA) ○ 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D)

### (2) 方法

長さ10cm～15cmの幼茎を選び、後述の試験液約20mlを入れた大型試験管中に5本ずつ幼茎基部を浸漬し、暗中にして20℃恒温、24時間静置した（前処理）のち、試験液をすて同量の蒸留水で補い、これを一日おきに換水し、7日間暗中20℃恒温に保った（後処理）。

測定は発根数をかぞえると同時に陰画による記録をおこない、発根の最長根長ならびに幼茎の伸長を測定した。データは幼茎一本あたりの不定根発根数の平均値で図・表にあらわす。

以下順次、実験方法を示す。

① エンドウ幼茎を各試験液に浸漬し、その条件をかえる。

\* 新発田地区理科教育センター・新発田市立第一中学校教諭

(a) オーキシンの濃度と発根数。試験液の濃度を  $1\text{ g/l}$  から  $10^{-7}\text{ g/l}$  までにかえ、前、後処理をおこなう。このような実験を3回測定し、平均値であらわした。

(b) 試験液に浸漬する時間と発根数。試験液の濃度を一定 ( $10^{-3}\text{ g/l}$ ) にし、前処理において、試験液の浸漬時間を3, 9, 24, 27時間とかえ、後処理後発根数を調べる。

② エンドウ幼茎を試験液 ( $10^{-3}\text{ g/l}$ ) に24時間浸漬しその条件をかえる。

(a) 換水後の温度と発根数。前処理後、後処理の温度を  $10^{\circ}\text{C}$ ,  $20^{\circ}\text{C}$ ,  $27^{\circ}\text{C}$ ,  $37^{\circ}\text{C}$  と4段階にかえて発根数を比較する。

(b) 照度と照射時間と発根数。前処理後、A区 ( $20^{\circ}\text{C}$  恒温, 蛍光灯  $7300\text{ Lx}$ ) と B区 ( $20^{\circ}\text{C}$  恒温, タングステン電球  $900\text{ Lx}$ ) をつくり、それぞれについて、6, 9, 24時間連続光を照射したのち暗中  $20^{\circ}\text{C}$  恒温で生育させ、その発根数を調べる。

③ 植物のもつホルモンと試験液 ( $10^{-3}\text{ g/l}$ ) との関係について

植物体内にある、植物生長ホルモンの移動が試験液の投与によって、発根にどのようにちがってくるか観察する。なお、この実験の前にそれぞれ Pea test<sup>4)</sup> をおこなう。

(a) 頂芽を除去した後、試験液に先端部と基部を浸漬する2グループにわけ。後者はさらに側芽ののびたものとのびないものに区分し、前・後処理をおこない発根数を調査し比較する。

(b) 側芽を除去し、前・後処理をおこない、発根数を比較する。

(c) 同一な発芽日数のものの子葉を除去したのち、前・後処理をおこない、発根数を比較する。

(d) 試料の茎の下部の一部分を環状皮層剝離したのち、前・後処理をおこない、発根数を調べる。

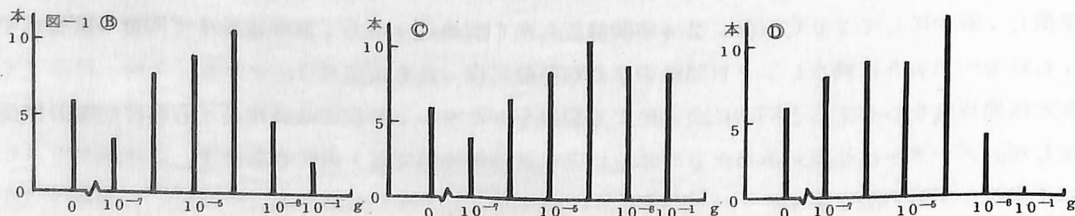
(e) 子葉を除去した基部の切り口を「ろう」で封じ、前・後処理をおこない、発根数を調べる。

④ 内部の組織の観察。とくに不定根の原基を観察するため、幼茎の切片をつくり、サフランニンとヘマトキシリンの二重染色をし検鏡する。

### 3 結 果

#### (1) 試験液の浸漬条件をかえる

濃度をかえた実験では各試料とも  $10^{-4}\text{ g/l}$  で最多発根数を示している。(図-1) で発根数0は幼茎の腐敗したものである。各試験液とも試験液の濃度が高くなるにしたがい、茎の基部が肥大生長し、表皮に亀裂がみられ、その部分からは不定根が発根している。



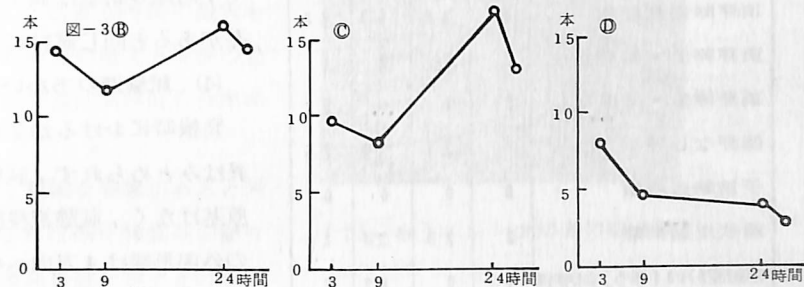
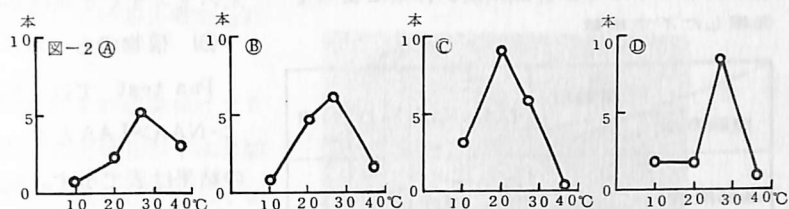
(図-1) 試験液の濃度と発根数。図のAは対照, BはIAA, CはNAA, Dは2,4-Dの試験液処理を示す (図2, 3, 4, 5も同じ記号で示す)

浸漬する時間を変えたものは、IAA, NAAで24時間が最多発根数を示し、2,4Dでは3時間が4.6といちばん大きくそのあと発根数が減っている。また、2,4Dに浸漬した場合、不定根はIAA, NAAに比べ太くまっすぐに発根している。

## (2) 試験液浸漬後の条件をかえる

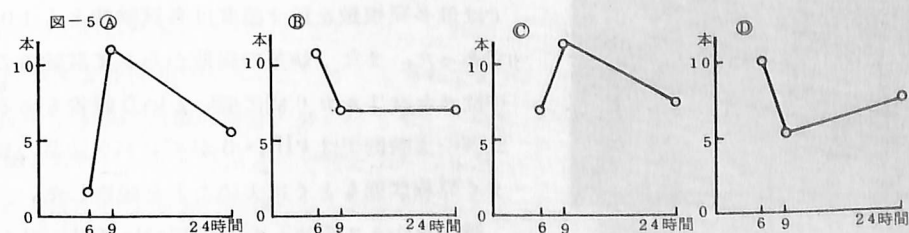
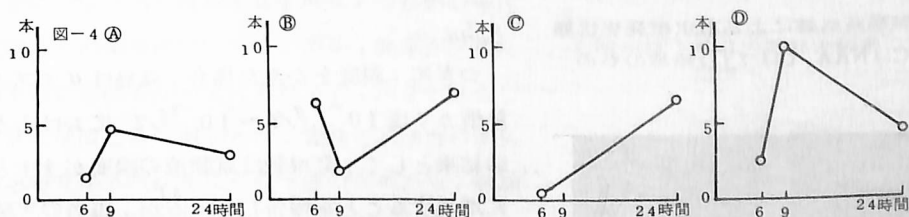
換水後暗中生で温度をかえた実験では、IAA、2,4Dは27℃、NAAは

20℃で発根数がいちばん多く、2,4D, NAAの発根数は対照の2倍に近い。また、NAAでは幼茎基部の肥大がいちじるしい。照度と照射時間を変えて実験したものは、照度7300LxでNAA試験液の幼茎のうち9時間処理のもののみ腐敗し測定不能となった。7300Lx照射では発生数の分布が二つの型に分類できる。また、いずれも900Lxの方が7300Lxより発根数が多い。なお、頂芽は7300Lxの方が900Lxのものより緑色であり、不定根の発育については7300Lxの方が速い。この現象については暗所の処理で9日目ぐらいの生育状態が5日目ぐらいからはじまり、また、2,4Dを使用したものは、



(図-2) 試験液の温度と発根数

(図-3) 試験液の処理時間と発根数

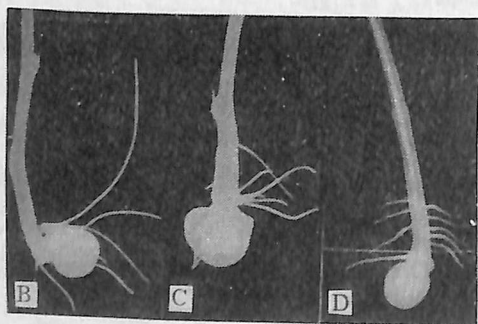


(図-4) 試験液の7300Lxでの照射時間と発根数

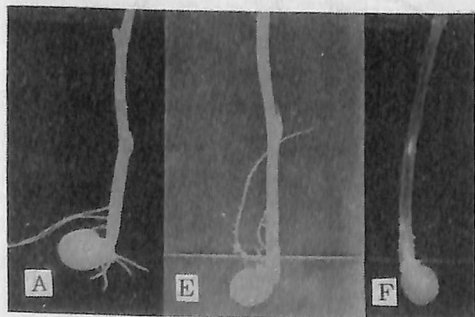
(図-5) 試験液の900Lxでの照射時間と発根数

植物のもつホルモンと試験液の作用によって  
発根した不定根数

試験液 実験方法	IAA	NAA	2,4D	対照
基部浸漬	5	8.6	4	6
頂芽除去部浸漬	4.6	3.8	6.3	4.8
頂芽除去・側芽あり	3	8	2	4
頂芽除去・側芽なし	3	1	0	0.2
側芽なし浸漬	7	2.3	4.3	7.6
子葉除去浸漬	0	0	0	0
環状皮層剝離	2	2.8	3.4	2.4
基部切り口「ろう」封浸漬	1	0	0.2	0



(図-6) 各試験液処理による不定根発生状態  
BはIAA, CはNAA, Dは2,4D処理のもの



(図-7) 不定根発生状態

Aは対照, Eは7300 Lx照射による不定根,  
Fはノコギリ状の不定根

太いまっすぐな発根が顕著にみられた。

### (3) 植物のもつホルモンと試験液との関係

Pea test では、同濃度で屈曲角の大きさは、 $2,4D > NAA > IAA$  となった。なお、③(a)～(e)の結果は表で示す。ただし、頂芽除去の実験(a)で、対照の幼茎は側芽がのびてしまい、実際は、頂芽があると同じ試料になった。

### (4) 試験液のちがいと組織・形態

発根時における幼茎の内部組織については別に差異はみとめられず、試験液処理前は幼茎に不定根の原基はなく、試験液浸漬後はじめて出現した。出根の外部形態は4方向への放射状のものが多く、これは茎の維管束に関係していると思われる。

## 4 考 察

### (1) 各試験液における不定根発根数について

Pea test において  $2,4D > NAA > IAA$  については作用の差があらわれたが、不定根発根数では、濃度をかえた実験の結果の平均値をみると  $2,4D > NAA > IAA$  であり、Pea test の値と同じ傾向を示している。また、浸透圧の大きさも  $2,4D > NAA > IAA$  となる。これは、エンドウ幼茎を暗中で生育させた場合の各試験液の発根作用の強さを示していると考ええる。

つぎに、濃度をかえた場合、滝島は  $\alpha$ ナフタリン酢酸カリ塩  $10^{-5} g/l \sim 10^{-2} g/l$  における本法試験結果として、発根数は試験液の濃度がますます増加することを報告している<sup>3)</sup>が、筆者の実験結果では最多発根数を示す濃度は各試験液とも  $10^{-4} g/l$  であった。また、幼茎の腐敗からみて試験液の  $P_H$  は中性またはアルカリ側に強いという報告もあるが<sup>5)</sup>、筆者の実験例では  $P_H 4 \sim 6$  がエンドウ幼茎の発育もよく発根状態もとくによいことを観察した。

時間をかえて浸漬したものについては、2,4D試験液が3時間で発根作用がいちじるしく働き、IAA、NAA の24時間のものと異なっている。これは、

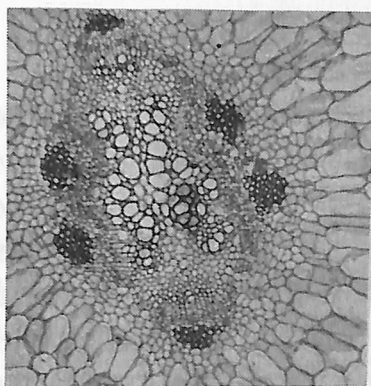


長時間処理が阻害作用をあらわしていると考えられる。

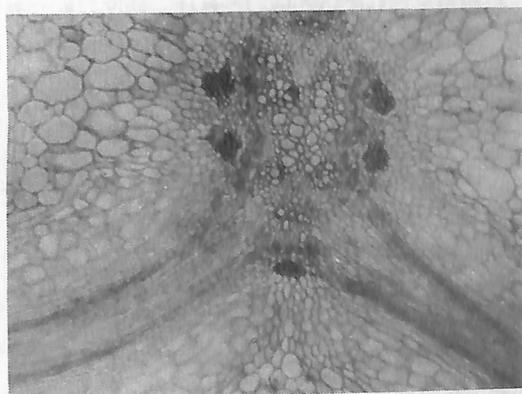
温度をかえた処理では、滝島によれば発根は  $20^{\circ}\text{C} \sim 25^{\circ}\text{C}$  が最適であると報告しているが、本実験ではいずれの試験液もその範囲に入る。しかし、幼茎の伸長の測定結果では、この温度が伸長の最大を示さず、濃度をかえた場合も伸長の最大と発根の最多数は同じ濃度ではない。この差は試験液の作用によると考える。

照度と照射時間の結果は、複雑な要素があると考えられるが、Goldacre<sup>5)</sup>によれば酸化酵素系の働きから処理後数時間のちに最多発根数を示すということであり、筆者の実験もこれと一致している。900 Lx の場合が 7300 Lx の場合より発根数がいずれも多いが、これは照度の増加とともに酸化酵素系の働きが増大したとともに光質のちがいも関係した現象と考える。900 Lx での発根数値は試験液の作用の影響がみとめられないが、7300 Lx になると試験液の作用の影響がみとめられるので、900 Lx から 7300 Lx の間に合成ホルモンの影響があらわれてくる照度があるか、または光質から考えて波長があるのではないかと考える。

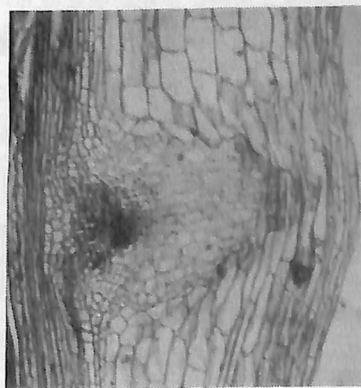
つぎに、幼茎内の植物生長ホルモンの移動の極性と試験液との関係については、頂芽、側芽が発根に関係することは表から考えられるが、頂芽を除去し試験液に浸漬した実験からは、極性と試験液の関係はわからなかった。ただこの一連の実験から、試験液の作用は植物体内のホルモンなどの存在により作用力がつよめられることがいえると思う。これは、頂芽除去により発根数がへることからも考察できる。また反面、子葉は発根の養分貯蔵だけでなく、発根に関係する物質を含んでいるのではないだろうか。このことは、子葉除去で発根がみとめられないこと、子葉を除去しクノッブ氏液で育てると、茎の伸長はみとめられるが、発根はみとめられないことから考えられる。また、子葉除去の切り口を「ろう」で封



(図-8) エンドウ幼茎の横断面



(図-9) 幼茎の節部と節部の間から不定根が発根



(図-10) 幼茎の不定根発根・縦断面

じたものは、IAA, 2,4D で発根率 0.1 とわずかながら発根したが、子葉のついている幼茎の発根率 95 パーセントよりいじしく小さかった。

## (2) 各試験液と不定根の形態について

幼茎の不定根発根部の組織については、観察結果のように試験液のちがいによる発根部位の差異はみとめられず(図-9, 10)のような不定根の原基が観察された。エンドウの根の側根では、維管束の位置が3弧なので3列を示すが、不定根の茎からの発根はほとんど4列の放射状であった。これは6列放射状に発根すべき不定根の原基が、幼茎の養分に関係して2~4列の放射状になったと考えられる。また、これは子葉除去の結果からも推測される。

不定根の外部形態は、2,4D 試験液のものは、太くまっすぐなものが多く、太さから観察すると、2,4D > NAA > IAA となり、IAA 試験液処理の不定根がいちばん細く(図-6)、また、幼茎は基部が大きくなり、亀裂を生じ、発根しており、発根まで生育しなくとも凸部となっている。基部の肥大はどの試験液にもみられたが、ノコギリ状の発根(図-7)は、エンドウ幼茎の不定根の特徴とされているが、本実験では、その例が少なかった。また、発根数と最長根長の関係は、発根数の多いものが必ずしも最長根長を示していない。これは、幼茎のもつ養分の量に限度があるためではないかと考える。

光を照射した実験では(図-7)に示すように、不定根に側根がでる現象が出現したが、対照にその現象がみられないことから、試験液と照度による相互的な生長促進によるものと思う。この現象は試験液による差はみとめられなかった。

頂芽を除去し、その部分を試験液に浸漬した実験で、幼茎の先端部がくねくね屈曲する現象が IAA と NAA でみられたが、この実験からは考察できなかった。

## 5 ま と め

エンドウ幼茎を用い、簡易試験法で、IAA, NAA, 2,4D 試験液のホルモン効果を定性的に試験したが、濃度による差はみとめられなかった。発根数の平均値では Pea test と同じ傾向を示した。時間、温度、照射時間などの効果では、それぞれの試験液によって差があることが判明した。

また、発根の内部組織では、各試験液における差はみとめられなかったが、外部形態においては不定根の太さについてのみ多少の差がみとめられた。

本実験は、重量パーセントによる効果の検定であるので、2,4D など分子量の大きいものでは、その作用が顕著にあらわれてくるきらいがある。これらについては、今後の課題として、生理および形態に対する影響から作用機作の解明を続行するつもりである。

## 文 献

- 1) 町田・藤井：さし木における発根促進処理と不定根形成に関する研究 東教大農学部紀要第15号(1969)
- 2) 勝見允行：植物ホルモン研究の動向 科学 Vol 36 No1 (1966)
- 3) 滝島康夫：エンドウ幼茎による植物生長ホルモンの簡易試験法 科学 Vol 19 No8 (1949)
- 4) 小西通夫：植物栄養学実験 292-293 朝倉(1959)
- 5) 大田行人：現代の生物学 4 205-206 岩波(1966)
- 6) 藤田哲夫：植物器官形成 112 河出(1946)
- 7) 町田・藤井：挿木における不定根形成に関する研究(第1報) 園芸学会誌 Vol 36 No4 (1967)